

prof. dr hab. Michał Witt
Instytut Genetyki Człowieka PAN
Zakład Genetyki Molekularnej i Klinicznej
Poznań

RECENZJA

**osiągnięcia naukowego pt: „Choroby jednogenowe - to bardziej skomplikowane.
Wykorzystanie transkryptomiki i stymulacja procesu autofagii dla zrozumienia
mechanizmu i potencjalnej terapii mukopolisacharydoz”
oraz aktywności naukowej dr Lidii Gaffke
w postępowaniu habilitacyjnym**

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe dr Lidii Gaffke przygotowane zostało w formie spinki tematycznie powiązanych publikacji z obszernym komentarzem i poświęcone jest badaniom mechanizmów patogenetycznych oraz eksperymentalnym czynnikom terapeutycznym w odniesieniu do chorób neurodegeneracyjnych ze szczególnym uwzględnieniem mukopolisacharydoz (MPS). Kandydatka przedstawiła zestaw ośmiu prac opublikowanych, które opisują osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę merytoryczną jej postępowania habilitacyjnego.

Droga zawodowa, praca naukowa i aktywność dydaktyczna

Pani dr Lidia Gaffke pracuje na stanowisku adiunkta w Katedrze Biologii Molekularnej Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego.

Dr Gaffke całą swoją drogę edukacyjną, a następnie naukową związała z macierzystym Wydziałem Biologii Uniwersytetu Gdańskiego. Tytuł magistra uzyskała w 2014 roku, stopień doktorski w 2021 pod promotorskim okiem prof. Grzegorza Węgrzyna. Miałem przyjemność być recenzentem Jej dysertacji doktorskiej. Przeszła klasyczny szlak akademicki od doktoranta, przez asystenta, do adiunkta.

Dr Gaffke jest doświadczonym dydaktykiem, prowadzi zajęcia dydaktyczne dla studentów kierunków: Ochrona Środowiska, Biologia, Biologia medyczna, Genetyka i biologia eksperymentalna na Wydziale Biologii Uniwersytetu Gdańskiego w zakresie mikrobiologii, biologii molekularnej z biotechnologią, technologii informacyjnych, neurofizjologii molekularnej i in. Wprowadziła innowacyjne podejście do przedmiotu Technologie informacyjne. W okresie od obrony rozprawy doktorskiej wypromowała 5 licencjatów oraz 2 magistrów.

Prowadzi zajęcia upowszechniające naukę m.in. w ramach Dni Mózgu, Bałtyckiego Festiwalu Nauki czy Nocy Biologów.

Uzyskała kilka nagród naukowych, w tym m.in. dwukrotnie nagrody zespołowe Rektora Uniwersytetu Gdańskiego za dorobek naukowy oraz nagrodę naukową Gdańskiego Towarzystwa Naukowego i Prezydenta Miasta Gdańska dla młodych pracowników nauki za rok 2021.

Całościowy dorobek naukowy

Przed doktoratem dr Gaffke opublikowała 23 prace. Po uzyskaniu stopnia doktorskiego dorobek naukowy Kandydatki obejmuje 38 publikacji, licząc w tym osiągnięcie habilitacyjne. Jest również współautorem 3 rozdziałów w monografiach, w tym jednej wydanej przez Elsevier Inc. Amsterdam. Sumaryczny IF Jej publikacji wynosi 278,245; liczba cytowań (WoS^{cc}) 1110; indeks Hirscha (WoS^{cc}) 15.

Kandydatka była kierownikiem jednego własnego grantu NCN Preludium 15 *Stymulacja różnych szlaków indukcji autofagii w aspekcie efektywności degradacji glikozoaminoglikanów w neuronopatycznych typach mukopolisacharydoz*. Ponadto uczestniczyła jako wykonawca w 10 projektach badawczych, w tym jednym projekcie w ramach 7 Programu Ramowego UE. Obecnie jest wykonawcą w czterech projektach badawczych będących w realizacji.

Osiągnięcie naukowe będące podstawą habilitacji

Osiem publikacji przedstawionych przez Kandydatkę jako osiągnięcie naukowe dotyczy różnorodnych zagadnień związanych z genetycznymi uwarunkowaniami mukopolisacharydoz, biologią i patomechanizmem tych chorób oraz z potencjalnymi eksperymentalnymi ich terapiami.

Pierwsze prace poświęcone są nowatorskim analizom transkryptomycznym w MPS. W pracy **Pierzynowska et al. 2023** pokazano, że poważne zaburzenia metaboliczne obserwowane w komórkach MPS mogą częściowo wynikać ze zmian w ekspresji wielu genów kodujących białka zaangażowane w procesy metaboliczne. Podwyższona ekspresja genów, takich jak *CD9* i *CLU*, może powodować niezależne zwiększenie obciążenia metabolicznego, prowadząc do zwiększonego nasilenia objawów, zwłaszcza neurologicznych. W pracy **Cyske et al. (2022)** wykazano, że produkcja białek kodujących geny zaangażowane w regulację ekspresji wielu innych genów, u pacjentów z MPS, jest znacznie zaburzona. Zidentyfikowano zmiany w przypadku 28 genów odpowiedzialnych za: transdukcję sygnału (np. *NOTCH3*), inicjację transkrypcji (np. *HOXC9*), splicing (np. *SRSF10*), degradację RNA (np. *EXOSC9*) czy translację (np. *RPL23*). Regulacja ich ekspresji przebiega zarówno na etapie transkrypcyjnym, jak i potranskrypcyjnym, być może obejmując również kontrolę translacji.

Z punktu widzenia rozwoju skutecznych terapii MPS niezwykle ważna była dokładna analiza skutków usunięcia złogów GAG. Użycie genisteiny (cząsteczki upośledzającej wydajność syntezy GAG; działaniu tej substancji grupa prof. Węgrzyna poświęciła dużo uwagi i na ten temat opublikowała wiele prac) spowodowało korekcję poziomu pierwotnie zmienionych białek, ale nie we wszystkich przypadkach. Zmiany te mogą być bardziej stabilne niż oczekiwano i nie muszą być znormalizowane, nawet jeśli pierwotny defekt metaboliczny zostanie odwrócony. Uzyskane wyniki mogą częściowo wyjaśnić niepowodzenie w odwróceniu wszystkich objawów MPS za pomocą obecnie stosowanych metod terapeutycznych. Normalizacja poziomu GAG za pomocą rekombinowanych ludzkich enzymów specyficznych dla różnych typów MPS poprawia morfologię tylko niektórych organelli. W pracy **Gaffke et al. (2021)** Kandydatka wykazała, że zmiany w organellach w komórkach MPS mogą wynikać z rozregulowania ekspresji szeregu genów odpowiedzialnych za ich strukturę i funkcję. Kandydatka analizowała także nowo zidentyfikowaną chorobę zespół MPS-plus (MPS-PS) starając się wyjaśnić, w jaki sposób GAG może gromadzić się w komórkach bez upośledzenia enzymów je degradujących. Analizy wykonane w pracy **Gaffke et al. (2023)** wskazują, iż zmiany w transporcie pęcherzykowym mogą w znacznym stopniu przyczyniać się do mechanizmu zwiększonej akumulacji GAG w komórkach MPS.

Kandydatka wysunęła hipotezę, że pierwotne magazynowanie GAG może powodować stres komórkowy prowadzący do rozregulowania ekspresji wielu różnych genów, co z kolei skutkuje zmianami w procesach komórkowych, takich jak transport pęcherzykowy. Wyniki Jej badań sugerują, że zniesienie pierwotnego defektu biochemicznego (akumulacja GAG) w komórkach MPS może zmniejszyć stres komórkowy, prowadząc do normalizacji poziomów klatryny w warunkach, w których specyficzna odpowiedź obronna nie jest już wymagana. Z transportem nierozzerwalnie związany jest cytoszkielet komórkowy. Nieprawidłowości w aktywnym cytoszkielecie zostały powiązane z wieloma chorobami neurodegeneracyjnymi. W pracy **Gaffke et al. 2023** Kandydatka zbadała zmiany, które zachodzą w cytoszkielecie aktywnym i ogniskowej adhezji w komórkach pacjentów oraz jak procesy te przebiegają w modelu mysim. Zaobserwowała znaczące zmiany w ekspresji genów i poziomie białek związanych z cytoszkieletem aktywnym i adhezją ogniskową. Rzuciło to nowe światło na zrozumienie patomechanizmu choroby, poszerzając zakres potencjalnych opcji terapeutycznych.

W pracy przeglądowej **Cyske et al. 2023** Kandydatka m.in. rozważa problem, czy stymulując proces autofagii można usunąć złogi GAG, podobnie jak to opisano dla złogów białkowych w innych chorobach neurodegeneracyjnych związanych z agregacją białek (takich jak HD, AD, PD). Hipotezę tę weryfikowała w ramach swojego grantu Preludium testując szereg naturalnych induktorów autofagii pod kątem efektywności degradacji GAG w komórkach pacjentów z MPS. Poszukiwanie niskocząsteczkowych związków, zdolnych przekroczyć barierę krew-mózg, jest niezwykle ważne dla neuronopatycznych form MPS. Efekty działania różnych form litu czy kwasu walproinowego są udokumentowane dla szeregu chorób neurodegeneracyjnych, jak HD, AD, PD czy ALS. W pracy **Gaffke et al. 2023** stwierdziła, że oba badane związki są skuteczne w obniżaniu poziomu GAG, co jest związane ze stymulacją procesu autofagii. Wskazuje to, że stymulacja autofagii może być uważana za obiecującą opcję terapeutyczną dla neuronopatycznych postaci MPS. W pracy **Rintz et al. 2023** opisano testowanie szeregu związków niskocząsteczkowych: kapsaicyny, kurkuminy, resweratrolu, kalcytriolu oraz trehalozy. Uzyskane wyniki wskazują na potencjalną użyteczność resweratrolu (i prawdopodobnie innych stymulatorów autofagii) w leczeniu choroby Sanfilippo oraz innych lizosomalnych chorób spichrzeniowych.

W czterech z powyższych publikacji jest pierwszym autorem, w dwóch ostatnim, w czterech autorem korespondencyjnym. Sześć z przedstawionych prac zalicza się do Q1, dwie do Q2. Jedna jest artykułem przeglądowym, pozostałe siedem to prace oryginalne.
Sumaryczny IF osiągnięcia naukowego Kandydatki wynosi 41,772.

Ocena osiągnięcia naukowego i dorobku

Całość osiągnięcia przedstawionego przez dr Lidę Gaffke w jej postępowaniu habilitacyjnym stanowi spójny i intelektualnie konsekwentny ciąg badawczy, którego celem jest określenie wzorca ekspresji genów mogących wpływać na rozwój objawów neurologicznych w MPS oraz analiza nieznanych dotąd, dodatkowych (obok akumulacji GAG) patomechanizmów wpływających głównie na objawy neurologiczne. Udokumentowane w przedstawionym osiągnięciu habilitacyjnym wykrycie tych zjawisk stanowi niezwykle interesujący i obiecujący punkt wyjścia dla potencjalnych nowatorskich podejść terapeutycznych, działających poprzez modulację objawów neurologicznych w MPS. Jednocześnie otrzymujemy tu szerokie spojrzenie na mnogość patomechanizmów uruchamianych w komórkach MPS – jak wynika z osiągnięcia naukowego dr Gaffke, nie tylko sama akumulacja GAG prowadzi do wielorakich dysfunkcji komórkowych w tej grupie chorób. Oznacza to również znacznie bardziej różnorodny zestaw czynników patogenetycznych leżących u podłoża tych chorób, czemu Kandydatka poświęca również sporo uwagi. Wszystko to otwiera potencjalne nowe kierunki rozwoju podejść

terapeutycznych w MPS. Badania te i przedstawione wyniki wnoszą dużo nowego do naszego rozumienia tych chorób rzadkich – w przypadku MPS, dla których leczenie przyczynowe nie istnieje, jest to niezwykle cenne. Przedstawione osiągnięcie naukowe dr Gaffke oceniam bardzo wysoko i uważam za wnoszące istotne novum naukowe do nauk o życiu, stanowiące istotny wkład w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych.

Pozostałe osiągnięcia naukowe Kandydatki, poza osiągnięciem habilitacyjnym, mieszczą się w dwóch nurtach merytorycznych: 1. powiązanie procesu replikacji DNA z metabolizmem komórkowym i wykorzystanie bakteriofagów, 2. poszukiwanie nowych elementów patogenezы oraz strategii terapeutycznych dla chorób neurodegeneracyjnych. Trzeba zauważyć, że osiągnięcie habilitacyjne stanowi tylko część drugiego z tych nurtów. Nurt #1 udokumentowany jest trzema publikacjami, nurt #2 pięcioma. Efektem prowadzonych badań naukowych w tym ostatnim jest patent przyznany w 2021 roku przez Urząd Patentowy RP, którego Kandydatka jest współautorem (dotyczy zastosowania genisteiny w terapii choroby Alzheimer).

W roku 2019 Kandydatka odbyła miesięczny staż naukowy w Laboratorium Neuropatologii Molekularnej, Zakład Biochemii Instytutu Nauk Neurologicznych im. Blanchette Rockefeller, West Virginia University, Morgantown, USA, co w mojej opinii zaspokaja wymagania prowadzenia badań w więcej niż jednym ośrodku naukowym, w szczególności zagranicznym.

Na podstawie przedstawionej dokumentacji stwierdzam, że osiągnięcie naukowe oraz cała aktywność naukowa dr Lidii Gaffke w pełni odpowiada wymaganiom postępowania habilitacyjnego, zgodnie z art. 219 Ustawy z dn. 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018, poz. 1668 z późn. zm.).

Na podstawie jak wyżej przedkładałam Radzie Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego wniosek o nadanie dr Lidii Gaffke stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne na podstawie przedstawionego osiągnięcia naukowego.

Ze względu na szczególnie wysoki poziom prezentowanych wyników oraz zdecydowanie ponadprzeciętny i bardzo wartościowy dorobek publikacyjny wnioskuję o wyróżnienie pracy habilitacyjnej.



Michał Witt

Poznań, 5 lutego 2024 roku